

University of Groningen

Genetic control of nitrate reduction in *Arabidopsis thaliana*

Braaksma, Fietje Johanna

IMPORTANT NOTE: You are advised to consult the publisher's version (publisher's PDF) if you wish to cite from it. Please check the document version below.

Document Version

Publisher's PDF, also known as Version of record

Publication date:

1982

[Link to publication in University of Groningen/UMCG research database](#)

Citation for published version (APA):

Braaksma, F. J. (1982). *Genetic control of nitrate reduction in Arabidopsis thaliana*. s.n.

Copyright

Other than for strictly personal use, it is not permitted to download or to forward/distribute the text or part of it without the consent of the author(s) and/or copyright holder(s), unless the work is under an open content license (like Creative Commons).

The publication may also be distributed here under the terms of Article 25fa of the Dutch Copyright Act, indicated by the "Taverne" license. More information can be found on the University of Groningen website: <https://www.rug.nl/library/open-access/self-archiving-pure/taverne-amendment>.

Take-down policy

If you believe that this document breaches copyright please contact us providing details, and we will remove access to the work immediately and investigate your claim.

Downloaded from the University of Groningen/UMCG research database (Pure): <http://www.rug.nl/research/portal>. For technical reasons the number of authors shown on this cover page is limited to 10 maximum.

SAMENVATTING

reductase-deficient
Further biochemical
-153.
istance to low con-
medium. Arabidopsis

Om de genetische regulatie van de nitraatreduktie bij hogere planten te bestuderen werden mutanten van *Arabidopsis thaliana* geïsoleerd, die gestoord zijn in de synthese van nitraatreduktase. Dit is het eerste enzym voor reductie van nitraat tot ammonium, de stof die ingebouwd kan worden in stikstofbevattende organische verbindingen. Verwacht werd dat mutanten die volledig gestoord zijn in de reductie van nitraat niet kunnen groeien op een voedingsbodem die alleen nitraat als stikstofbron bevat, maar wel als daarnaast ammonium aanwezig is. Mutanten werden daarom gezocht op een voedingsmedium met ammonium-nitraat, het medium waaroo *Arabidopsis* op het oog het best groeit. Er is naar chloraatresistente mutanten gezocht, omdat chloraat door nitraatreduktase gereduceerd kan worden tot chloriet dat zeer giftig is. De gevolgen van chloriet op het wildtype zijn duidelijk te zien: de plantjes worden spierwit, drogen uit en gaan dood.

Na een mutagene behandeling konden mutanten geïsoleerd worden die resistent waren tegen een chloraatkonzentratie waarbij het wildtype doodging. Hoewel de meeste van deze mutanten resistent bleken te zijn door een verminderde ooname van chloraat, zijn er ook 10 mutanten geïsoleerd met een veel lagere nitraatreduktase activiteit. Hiervan hebben er 3, n.l. B2-1, B25 en B73 zo weinig enzymactiviteit dat ze slecht groeien op een voedingsbodem die nitraat als enige stikstofbron bevat. De andere mutanten kunnen nog voldoende nitraat reduceren om op het nitraatmedium te kunnen groeien. Alle mutanten met een lage nitraatreduktase activiteit hebben op media met nitraat juist een hoge concentratie aan nitraat en een hoge nitrietreduktase activiteit.

Van B25, de mutant die de laagste nitraatreduktase activiteit heeft en het slechtst groeit op het nitraat-medium zijn revertanten geïsoleerd. Alle revertanten bleken het wildtype fenotype te hebben verworven door mutatie in één en hetzelfde suppressor-gen, dat onafhankelijk splitst van de oorspronkelijke mutatie. De biochemische kenmerken van het enzym nitraatreduktase van revertanten en wildtype zijn gelijk. Dit betekent dat een mutatie van het suppressor-gen het effect van de oorspronkelijke mutatie geheel kan opheffen.

Waarschijnlijk is het enzym nitraatreduktase een complex dat is samengesteld uit subeenheden met cytochrome-c reductase ak-

tiviteit en een Mo-bevattende cofactor. Een maat voor de beschikbaarheid van deze cofactor is de activiteit van xanthine dehydrogenase (XDH), een enzym dat gebruik maakt van dezelfde cofactor. Door de frakties van een sucrose-gradient te testen op nitraatreduktase en cytochrome-c reductase activiteit krijgen we gegevens over de komplekvorming. Gevonden werd, dat de mutanten B25 en B73 een erg lage XDH-activiteit bezitten, zodat dit waarschijnlijk cofactor-mutanten zijn. Deze mutanten geven een ander elutiepatroon van de sucrose-gradient dan het wildtype, en ook verschillend van elkaar. Zo heeft B25 het vermogen verloren om complexen te vormen, terwijl B73 wel complexen vormt, maar met een iets lager moleculair gewicht dan die van het wildtype en met een zeer lage nitraatreduktase activiteit. Enkele andere mutanten hebben een XDH-activiteit vergelijkbaar met wildtype en zijn daarom geen cofactor-mutanten. Door het onderzoeken van sucrose-gradienten bleek dat één van deze mutanten enzymcomplexen vormt met hetzelfde moleculair gewicht als het wildtype, maar met een lagere nitraatreduktase activiteit. Een andere mutant van dit type heeft juist problemen met de komplekvorming, aangezien er molekulen met cytochrome-c reductase activiteit zijn die een molekulgewicht hebben tussen dat van subeenheden en wildtype complexen in. Beide mutanten zouden de structurele genen voor het apo-enzym kunnen betreffen. Het is ook mogelijk, dat de mutanten met een lage nitraatreduktase activiteit, met uitzondering van de cofactor-mutanten B25 en B73, niet direkt betrokken zijn bij de genetische regulatie maar bij de biochemische activiteitskontrolle van nitraatreduktase.

1. INLEI

1.1. Uit

Toen
chemisch
bekend o
onderwer
teressan
te gaan
bij hoge
decennia
netische
dit onder
mels, te
pekten (
nogere p

1.2. Het

We hel
riaal va
plantje
verschil
1. het i
kweek
2. als p
weken
beuren
3. Arabi
kruis
4. één g
zodat
5. Arabi
licha
ten),
herken
liggin
genen